

Projet de fin d'étude

Filière: LICENCE SCIENCES ET TECHNIQUES

Option: BIOLOGIE ET SANTE

ÉTUDE SÉRO ÉPIDÉMIOLOGIQUE DE LA LEISHMANIOSE CANINE À LA VILLE DE FÈS

Réalisé par : M^{elle} DOUGHMI Orsula

Encadré par :

- Dr. EL OUALI LALAMI Abdelhakim (LRDEHM-Fès)
- Pr. BEKHTI Khadija (FST-Fès)

Soutenu le : 18/06/2010

Devant les membres du jury :

- Dr. EL OUALI LALAMI Abdelhakim : Encadrant (LRDEHM-Fès)
- Pr. BEKHTI Khadija : Encadrante (FST-Fès)
- Dr. FELLAH Hajiba : Examinatrice (LNRL-INH-Rabat)
- Pr. AARAB Lotfi : Examineur (FST-Fès)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ

الرَّحِيمِ

« وَمَا تَوْفِيقِي إِلَّا بِاللَّهِ عَلَيْهِ تَوَكَّلْتُ وَإِلَيْهِ أُنِيبُ »

سورة هود ﴿ الآية 88 ﴾

Remerciements

À Monsieur EL OUALI LALAMI Abdelhakim

Directeur du Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du milieu de Fès.

Pour nous avoir fait l'honneur de proposer et encadrer ce travail.

Sincères remerciements.

À Madame BEKHTI Khadija

Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès.

Pour nous avoir fait l'honneur d'encadrer cette soutenance et de collaborer à la réalisation de ce travail.

Toute notre gratitude.

À Madame FELLAH Hajiba

Biologiste au LNRL à l'Institut National d'Hygiène de Rabat.

Pour nous avoir fait l'honneur de participer à la réalisation de ce projet.

Nos vifs remerciements.

À Monsieur FRAPPIER Denys

Médecin vétérinaire et directeur de l'Américain Fondouk de Fès.

Pour tous les efforts que vous avez fournis pour la réalisation de ce travail.

Notre reconnaissance particulière.

À Monsieur BENNIS Youssef

Médecin du Bureau Communal d'Hygiène de Fès.

Pour avoir collaborer à la réalisation de ce travail.

Sincères remerciements.

À Madame MANJRA Ghita

Médecin vétérinaire à l'abattoir de Fès.

Pour tous les risques qu'elle a prit pour le bon déroulement de ce projet.

Nos vifs remerciements.

À Monsieur MANIAR Saâd

Docteur biologiste et responsable de l'ORS de Fès.

Pour avoir accepté aimablement de discuter ce travail.

Sincères remerciements.

À Monsieur DOUGHMI Abdessamad

Médecin généraliste au Centre de Santé de Sidi Brahim à Fès.

Pour l'aide immense et le soutien moral qu'il nous a réservé.

Notre profonde gratitude.

À Madame BENADADA Zineb

Pour l'immense soutien qu'elle nous a apporté.

Notre reconnaissance particulière.

À Monsieur AARAB Lotfi

Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès.

Pour nous avoir fait l'honneur de prendre part à notre jury.

Nos vifs remerciements.

À tout le personnel du LRDEHM

En particulier Mr Hamid SABREI Major,
et Melle Wafae EL ALAMI technicienne au sein du LRDEHM de Fès.

Sincères remerciements.

À toute personne ayant participé à la réalisation de ce travail, Merci.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LRDEHM: Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du milieu

FST: Faculté des Sciences et Techniques

INH: Institut National d'Hygiène

LNRL: Laboratoire National de Référence des Leishmanioses

ORS: Observatoire Régional de la Santé

LCan: Leishmaniose Canine

LF: Leishmaniose Féline

LV: Leishmaniose Viscérale

LC: Leishmaniose Cutanée

LCM: Leishmaniose Cutanée Muqueuse

IFI: ImmunoFluorescence Indirect

ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

DAT: Direct Agglutination Test

ADN: Acide DésoxyriboNucléique

PBS: Phosphate Buffered Saline

AMM: Autorisation de Mise sur le Marché

IV: Intra Veineuse

SC: Sous Cutanée

IM: Intra Musculaire

Per os: par voie orale

MY: My Yacoub

ORL: sphère Oto-Rhino-Laryngée

OIE: Office International des Epizooties

LCM: Leishmaniose Cutanée à *Leishmania major*

LCT: Leishmaniose Cutanée à *Leishmania tropica*

LVI: Leishmaniose viscérale à *Leishmania infantum*

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1: RÉGIONS ENDÉMIQUES DES CAS DE LEISHMANIOSE CUTANÉE, MUCO-CUTANÉE ET VISCÉRALE	2
FIGURE 2: CARTE DE RÉPARTITION DES LEISHMANIOSES AU MAROC (RHJAOU, 2009).....	3
FIGURE 3: ÉVOLUTION DU NOMBRE D'ATTEINTES DES LEISHMANIOSES AU MAROC 1997-2007.....	4
FIGURE 4: SCHÉMA DES FORMES AMASTIGOTE ET PROMASTIGOTE DE LEISHMANIA.....	5
FIGURE 5: FORME AMASTIGOTE DE LEISHMANIA INFANTUM.	6
FIGURE 6: FORME PROMASTIGOTE DE LEISHMANIA INFANTUM.	6
FIGURE 7: DESSIN D'UN PHLÉBOTOME FEMELLE.	7
FIGURE 8: CYCLE DE VIE DE LEISHMANIA INFANTUM.....	8
FIGURE 9: LEISHMANIOSE CUTANÉE, LÉSIONS HUMIDES.	10
FIGURE 10: LEISHMANIOSE CUTANÉO-MUQUEUSE.....	11
FIGURE 11: CAS DE LEISHMANIOSE VISCÉRALE.....	13
FIGURE 12: LÉSIONS ÉRYTHÉMATEUSES FACIALES ET AURICULAIRES CHEZ UN CHAT LEISHMANIEN.	14
FIGURE 13: CHIENS LEISHMANIENS.....	16
FIGURE 14: IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE.....	19
FIGURE 15: CASSETTE DU TEST RAPIDE LEISHMANIA.....	22
FIGURE 16: RÉSULTAT NÉGATIF DU TEST RAPIDE LEISHMANIA.....	23
FIGURE 17: RÉSULTAT POSITIF DU TEST RAPIDE LEISHMANIA (IGM).....	23
FIGURE 18: RÉSULTAT POSITIF DU TEST RAPIDE LEISHMANIA (IGG).....	23
FIGURE 19: RÉSULTAT POSITIF DU TEST RAPIDE LEISHMANIA (IGM ET IGG).....	24
FIGURE 20: RÉSULTAT NON VALIDE DU TEST RAPIDE LEISHMANIA.....	24
FIGURE 21: RÉPARTITION DES CAS DE LEISHMANIOSE VISCÉRALE DANS LE TEMPS.....	37
FIGURE 22: COMPARAISON DES CAS DE LV À FÈS ET À MY YACOUB PAR LOCALITÉ.	38
FIGURE 23: RÉPARTITION DES CAS DE LEISHMANIOSE VISCÉRALE À FÈS PAR COMMUNES ENTRE 2001-2009.....	39
FIGURE 24: RÉPARTITION DES CAS DE LEISHMANIOSE VISCÉRALE À FÈS PAR CENTRE DE SANTÉ ENTRE 2001-2009.	39
FIGURE 25: RÉPARTITION DES CAS DE LEISHMANIOSE VISCÉRALE À MY PAR COMMUNES ENTRE 2001-2009.	41
FIGURE 26: COMPARAISON DES CAS DE LV DÉCLARÉS À FÈS ET À MY YACOUB SELON LE SEXE ENTRE 2001-2009.	42
FIGURE 27: COMPARAISON SELON LE SEXE DES CAS DE LV DÉCLARÉS À FÈS ET À MY ENTRE 2006- 2009.	43
FIGURE 28: COMPARAISON DES CAS DE LV DÉCLARÉS À FÈS ET À DE MY YACOUB SELON L'ÂGE ENTRE 2006-2009.	43
FIGURE 29: RÉPARTITION DES CHIENS ÉTUDIÉS SELON QU'ILS SOIENT À PROPRIÉTAIRES OU ERRANTS.	45
FIGURE 30: RÉPARTITION DES CHIENS ÉTUDIÉS SELON LA SYMPTOMATOLOGIE.....	46
FIGURE 31: RÉPARTITION DES CHIENS ÉTUDIÉS SELON LE SEXE.....	47
FIGURE 32: RÉPARTITION DES CHIENS ÉTUDIÉS SELON LA RACE.....	48
FIGURE 33: RÉPARTITION DES CHIENS ÉTUDIÉS SELON LES TRANCHES D'ÂGE.....	59

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1: SITUATION DES LEISHMANIOSES A LA REGION DE FES-BOULMANE (ANNEE 2008).	4
TABLEAU 2: CLASSIFICATION DU PARASITE.	5
TABLEAU 3: CLASSIFICATION DU VECTEUR.	7
TABLEAU 4: REPARTITION DES PARASITES ET DES VECTEURS DANS L'ESPACE.	12
TABLEAU 5: SYMPTOMATOLOGIE DE LA LEISHMANIOSE CANINE.	15
TABLEAU 6: CARACTERISTIQUES DES TECHNIQUES SEROLOGIQUES.	25
TABLEAU 7: MEDICAMENTS TRAITANTS LA LEISHMANIOSE CANINE.	26
TABLEAU 8: SECTEURS TOUCHES DE LA PROVINCE DE FES.	40
TABLEAU 9: SECTEURS TOUCHES DE LA PROVINCE DE MY YACOUB ENTRE 2001-2009.	41

RÉSUMÉ

La leishmaniose canine est une maladie infectieuse liée à la transmission, par piqûre de phlébotome, d'un protozoaire flagellé: *Leishmania infantum*. C'est une maladie grave et zoonotique pour laquelle le chien est le principal réservoir.

Le présent travail consiste à réaliser:

- Une étude rétrospective décrivant l'évolution épidémiologique des cas de leishmaniose viscérale à la province de Fès et celle de My Yacoub durant la période allant de 2001 à 2009.
- Une étude prospective séro-épidémiologique de la leishmaniose canine à Fès.

L'étude rétrospective a montré que 202 cas de kala-azar ont été recensés durant les neuf dernières années. La majorité de ces cas, ont été déclarés à la province de My Yacoub ou l'aspect rural prédomine, alors qu'à celle de Fès, ce sont les secteurs urbains qui sont les plus touchés. La répartition des cas de LV selon le sexe montre une prédominance masculine (soit 58%) à My Yacoub et féminine (soit 67,57%) à Fès. L'âge des cas recensés de LV, témoigne dans les deux provinces, d'une prévalence (soit 87,5%) de la leishmaniose infantile.

Dans l'étude prospective 50 sérums canins ont été analysés par des tests rapides. La fréquence de la maladie chez les chiens s'élève à 12 %. 66,66 % des cas canins positifs à la sérologie sont asymptomatiques. Ce sont les jeunes chiens de moins de 5 ans qui sont les plus fréquemment atteints avec une prédominance de la leishmaniose canine femelle (soit 83,33%) et une sensibilité de la race Berger Allman à l'infection.

La leishmaniose canine est une maladie grave, souvent mortelle chez le chien et à caractère zoonotique. Le chien étant le principal réservoir de la maladie, le contrôle de la leishmaniose canine est donc d'un intérêt important à la fois pour le pronostic vital du chien et pour la réduction de l'incidence de la LV chez l'homme.

Mots clefs: Leishmaniose viscérale ; Leishmaniose canine ; Epidémiologie ; Phlébotomes ; Réservoirs ; Test Rapide ; Fès ; My Yacoub.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les leishmanioses représentent un groupe de maladies parasitaires d'expression clinique variée, dues à un protozoaire du genre *Leishmania*. Ces affections sont transmises par la piqûre d'un insecte vecteur: le phlébotome femelle.

L'importance des leishmanioses dans le monde est illustrée par le nombre annuel de nouveaux cas qui se chiffre entre 1,5 à 2 millions (OMS, 2006). Le Maroc qui compte parmi les pays les plus exposés est concerné par 4 leishmanioses (RHAJAoui, 2009):

- La leishmaniose cutanée due à *Leishmania major* fréquente au Sud et à l'Est du pays.
- La leishmaniose cutanée due à *Leishmania tropica* plus fréquente au centre et à l'Ouest du Maroc.
- La leishmaniose cutanée due à *Leishmania infantum* présente au Rif central.
- La leishmaniose viscérale due à *Leishmania infantum* qui sévit au Nord et au centre du pays avec de rares cas déclarés au Sud.

Au Maroc, la morbidité de la leishmaniose viscérale fluctue en moyenne autour de 152 cas par an (RHAJAoui, 2009). Cette zoonose touche préférentiellement le jeune enfant, mais nous notons l'apparition d'atteintes chez l'adulte, ceci rapproche le profil épidémiologique de cette parasitose à ceux déjà rapportés dans d'autres pays méditerranéens (Tunisie, Algérie...).

Fès et ses alentours sont touchés par les leishmanioses quelles soient cutanées ou viscérale (DELM, 2008). Cette dernière est une zoonose pour laquelle l'espèce canine est le réservoir du parasite et également la source indirecte d'infection de l'homme. La seule étude réalisée dans notre région en 1997 traitait "les variations du taux d'anticorps anti *Leishmania infantum* chez une population canine" (NAJJAR et al., 2000). Depuis, la situation séro-épidémiologique de la LCan reste méconnue.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail qui a pour but la réalisation d'une étude séro-épidémiologique de la leishmaniose canine à Fès à fin de déceler la situation actuelle de la LCan et de montrer le rôle du chien dans la transmission de la parasitose.

Ce travail comporte:

- Une partie bibliographique sur les leishmanioses.
- Une étude rétrospective qui a pour objectif de déterminer le nombre de cas positifs de la LV à Fès et à My Yacoub, ainsi que leur évolution durant la période allant de 2001 à 2009.
- Une étude prospective séro-épidémiologique de la leishmaniose canine ayant pour objectif la détermination de la situation épidémiologique de la leishmaniose dans la population canine.

- Une discussion des résultats trouvés.
- Une conclusion générale et recommandations.

MATÉRIELS & MÉTHODES

I-Etude rétrospective

Il s'agit d'une étude rétrospective de tous les cas de leishmaniose viscérale enregistrés au SIAAP de Fès et celui de Moulay Yacoub entre 2001 et 2009.

1-Lieu de l'étude

La province de Fès et celle de My Yakoub constituent le lieu de l'étude rétrospective. Ces deux provinces font partie de la région de Fès-Boulmane. Cette dernière se situe dans le centre nord du Maroc et inclut une partie du Moyen Atlas. Sa superficie est de 20 318 km² soit 2,85% de la superficie totale du Royaume. La population est de 1 573 055 habitants soit 5,26% de la population totale du pays.

La province de My Yakoub comprend 155074 habitants dont la plupart appartiennent à la localité rurale. Le nombre d'habitants à Fès est plus élevé atteignant 1032485 personnes (recensement 2007).

2-Période de l'étude

La durée de l'étude rétrospective s'étend sur neuf ans allant de 2001 à 2009.

3-Matériels de l'étude

Pour la réalisation de cette étude nous avons eu recours aux registres du SIAAP de Fès et de celui de My Yakoub.

4-Paramètres étudiés

Nous nous sommes focalisés sur les paramètres suivants:

- Nombre de cas
- Province
- Localité rurale ou urbaine
- Communes
- Centres de santé
- Date du dépistage
- Age
- Sexe

5-Méthode de l'étude

Pour la saisie et le traitement des données, nous avons utilisé le logiciel Excel 2007. Cet outil nous a permis de traiter les données avec simplicité et de réaliser divers graphiques.

II-Etude prospective

1-Lieu de l'étude

Notre étude a été réalisée dans divers établissements dont nous citons :

- Le Laboratoire Régional du Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu de la délégation médicale de la préfecture de Fès, au sein de l'unité de parasitologie.
- Le laboratoire de référence de la leishmaniose au sein de l'Institut National d'Hygiène.
- L'Américain fondouk où ont été réalisés les prélèvements sur les chiens à propriétaire.
- La fourrière (abattoir de Fès) lieu où ont été réalisés les prélèvements sur les chiens errants capturés avant d'être euthanasiés.

2-Période de l'étude

La période d'étude est de deux mois, du 15 Avril au 15 Juin de l'année 2010.

3-Matériels de l'étude

Les chiens de l'étude

Les chiens étudiés sont divisés en deux groupes :

Le premier groupe est composé de 41 chiens à propriétaires, venant en consultation à l'Américain Fondouk. Pour chaque chien, une fiche de renseignements (voir annexe) a été soigneusement remplie à la lumière des données fournies par le propriétaire et l'examen clinique. Les renseignements recueillis concernaient l'âge, le sexe, la race et les signes cliniques. Il est à noter que l'âge des chiens a été retenu sur des éléments de l'interrogatoire et l'état de la dentition de l'animal.

Le second groupe est composé de 9 chiens errants, qui ont été capturés par le personnel de la fourrière. Tous les chiens capturés ont été emprisonnés 48h étant donné qu'ils étaient suspects de rage. Au bout de cette période, nous avons effectués des prélèvements sur les chiens toujours vivants avant qu'ils ne soient euthanasiés. Nous tenons à préciser ici que la plupart des chiens errants sont abattus au moment de leur capture par coup de feu. Ceci justifie le faible effectif au quel nous avons pu effectuer des prélèvements. Quant aux renseignements, nous n'avons pu connaître que le sexe et la race, mais tous les chiens présentaient des signes cliniques d'appel de leishmaniose canine, dont nous citons la dermatite sèche, la dépilation et l'amaigrissement.

Les prélèvements

Les prélèvements sanguins ont été réalisés sur l'ensemble des 50 chiens. Il s'agissait de prélèvements de sang veineux sur tube sec pour le premier groupe. Quant au second groupe, les veines étaient peu visibles, étant donné que les chiens étaient trop maigres et très agités, en plus du manque de matériel adéquat pour les immobiliser. Ceci nous a poussé à effectuer des prélèvements intracardiaques rapides sur tubes secs.

Les échantillons sanguins ont été directement acheminés dans une glacière à 4°C vers le laboratoire régional du diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu. La durée du trajet ne dépassait pas les 10mn.

Au sein de l'unité de parasitologie, la plupart des prélèvements ont déjà coagulés. Après leurs centrifugations à 4000tr pendant 4mn, les sérums sont recueillis dans des tubes eppendorf et conservés à -20°C.

4- Méthodes de l'étude

Nous avons envisagé de traiter les sérums avec la technique IFI, mais celle-ci fut abandonnée du fait qu'à chaque essai les résultats étaient négatifs y compris celui du témoin positif. Le laboratoire de référence des leishmanioses de l'institut national d'hygiène de Rabat s'est retrouvé face au même problème après avoir essayé divers témoins positifs. Face à cette situation, nous avons optés pour l'utilisation d'une autre technique pour l'analyse des prélèvements des chiens étudiés. Il s'agit du test rapide « OnSite leishmania IgG/IgM Combo Rapid test » qui est une méthode immunochromatographique permettant la détection d'anticorps anti-leishmanies présents dans le sérum du chien.

Après avoir sorti le sérum du congélateur, nous le laissons revenir à température ambiante. La paillasse est alors désinfectée, bien que cela ne soit pas obligatoire, ça évite toute contamination de la bandelette du test rapide. Le matériel nécessaire à la manipulation (micropipette, portoir, kit...) est alors disposé sur la surface du travail.

Le test rapide utilise une bandelette sensibilisée par l'antigène recombinant. Après avoir numéroté la cassette, 30 à 45µl du sérum sont déposés dans le puits. Une même quantité de diluent lui est ajoutée. La migration commence et la lecture n'est effectuée que 15 mn après le dépôt du sérum.

Si le sérum contient des anticorps anti-leishmanies, ils se lieront à l'antigène recombinant présent dans le puits et lors de la migration, ils seront capturés par les anticorps anti IgG ou IgM humains. L'apparition d'une bande bordeaux couplée à une autre bande contrôle, témoigne que le sérum est positif.

Un sérum négatif aura comme résultat l'apparition d'une seule bande contrôle.

Tous les résultats ont été confirmés par un second test rapide "OnSite leishmania Ab Rapid Test", les seules différences avec le premier c'est qu'il utilise comme antigène une protéine A

extraite de *Leishmania donovani*, il détecte les immunoglobulines totaux sans aucune distinction entre les classes et l'échantillon ne peut être que du sérum ou du plasma.

Traitement des données de l'étude prospective

Pour la saisie et le traitement des données, nous avons utilisés le logiciel Excel 2007 qui nous a permis la réalisation de divers graphiques.

RESULTATS & DISCUSSIONS

I-Résultats et discussions de l'étude rétrospective

L'étude rétrospective que nous avons réalisée se base sur les cas positifs de leishmaniose viscérale déclarés au niveau du SIAAP de Fès et celui de MY. Nous avons procédé par la réalisation d'une répartition des cas dans le temps et dans l'espace, ainsi que selon le genre : le sexe et l'âge.

1-Répartition des cas de leishmaniose viscérale dans le temps à Fès-My Yacoub

Au cours des neuf dernières années, la période allant de 2001 à 2009, il y a eu 202 cas de leishmaniose viscérale recensés à Fès-My Yacoub, parmi lesquels 88 cas provenaient de la ville de Fès (figure 21).

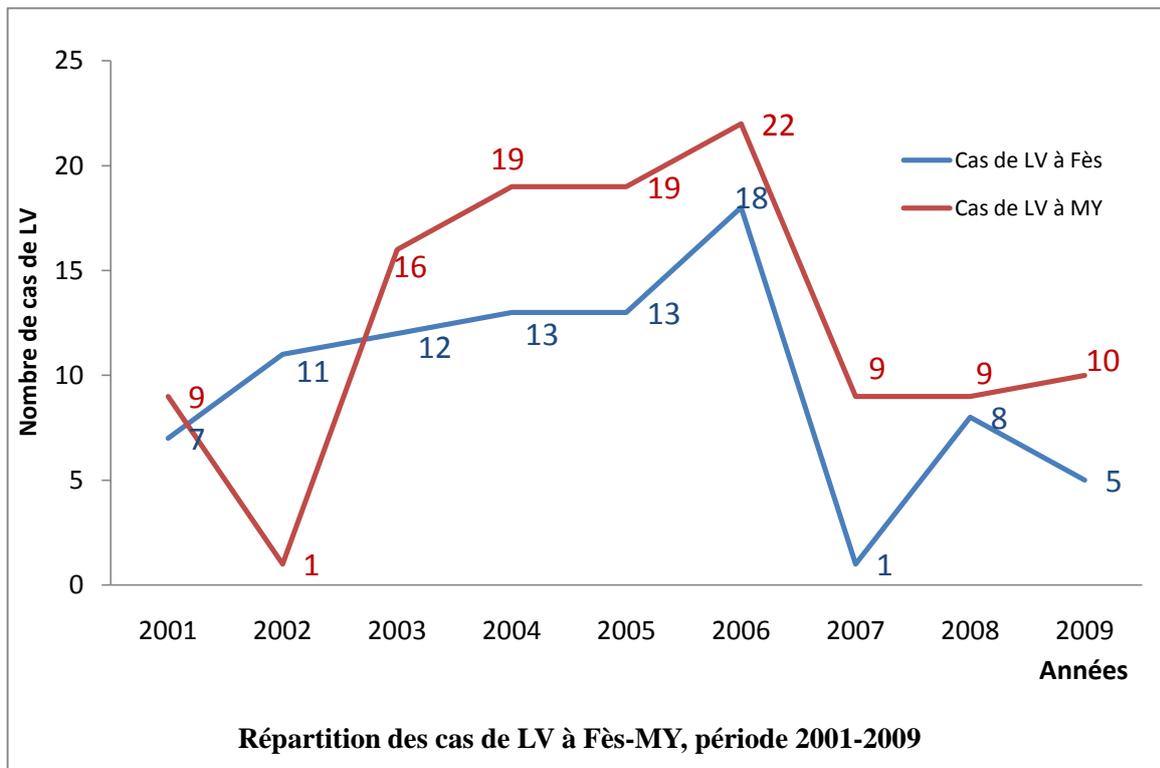


Figure 21: Répartition des cas de leishmaniose viscérale dans le temps (2001-2009).

D'après le graphique, la majorité des cas ont été déclarés entre 2001 et 2006, avec un pic de 40 cas en 2006. Or, vers la fin de cette même année, un programme de lutte contre le vecteur et certains réservoirs a été lancé par le ministère de la santé (Ministère de la Santé Royaume du Maroc, Rapport de la gestion intégrée de la lutte contre les vecteurs. Sept 2006), ce qui explique la chute des cas en 2007. Toutes fois, la hausse du nombre de cas de la leishmaniose

viscérale en 2008 et 2009 pourrait être expliqué par un relâchement dans le programme de lutte.

2-Répartition des cas de leishmaniose viscérale dans l'espace

2-1-Répartition des cas de LV à Fès-My Yacoub par localité

Au cours de la période comprise entre 2001 et 2009, 88 cas de la leishmaniose viscérale ont été déclarés à la province de Fès, dont 24% étaient de localité rurale, alors que la majorité des cas, soit 76% étaient de localité urbaine (figure 22).

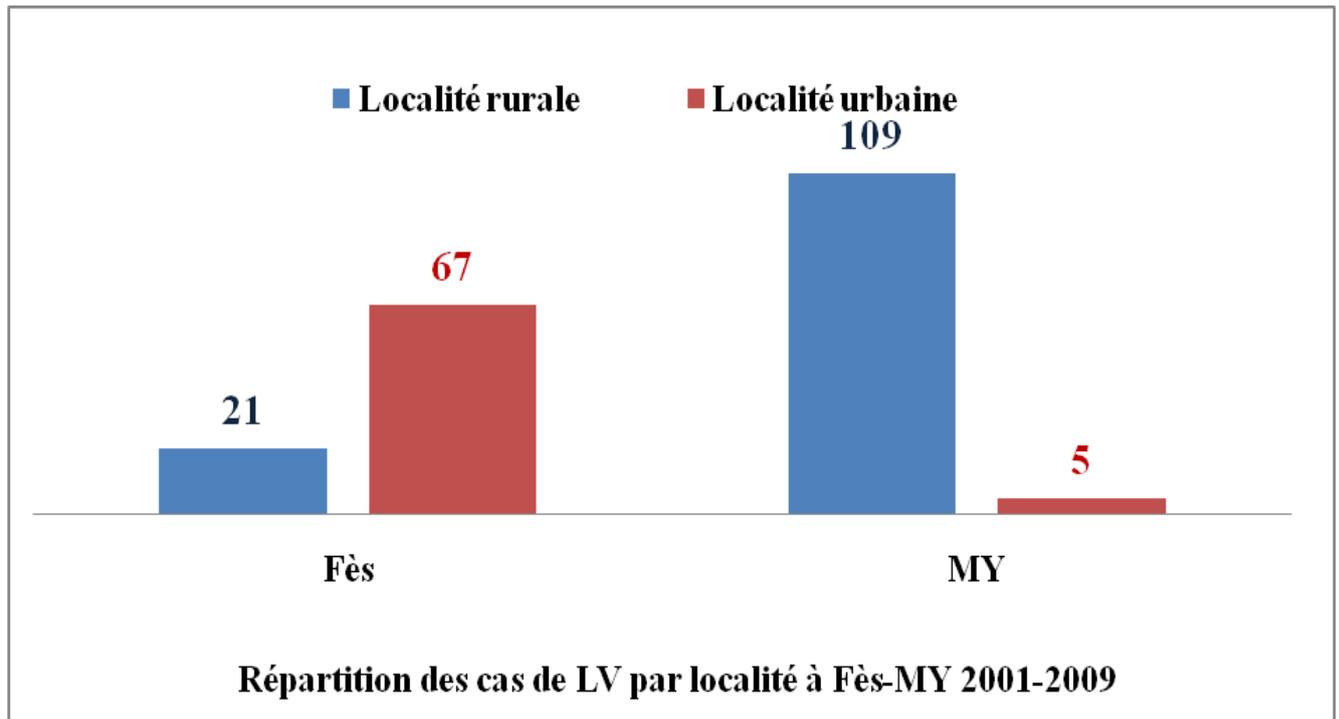


Figure 22: Comparaison des cas de LV à Fès et à My Yacoub par localité entre 2001-2009.

Au cours de cette même période, 114 cas positifs de la leishmaniose viscérale ont été déclarés à la province de Moulay Yacoub, dont 4% étaient de localité urbaine, alors que 96% étaient de localité rurale.

Nous remarquons que la répartition des cas de la leishmaniose viscérale à la province de Moulay Yacoub est tout à fait le contraire des résultats trouvés à la province de Fès. Ceci pourrait être expliqué par le fait que la première est constituée en majorité de localités rurales.

La présence de cas positifs à la leishmaniose viscérale en zone urbaine pourrait être expliquée par le phénomène de dégradation de l'environnement dans la ville de Fès ou quelques bidonvilles persistent malgré le projet de remplacement de l'habitat insalubre par des logements salubres lancé en 2009. Dans ces cités, la prolifération des chiens est alarmante, selon le BCH 4869 chiens ont été abattus l'année dernière par les services de municipalité de la province de Fès. La ville de Fès contient aussi des foyers à phlébotomes parmi lesquels nous citons celui de Hafat Moulay Driss ou a été montrée la présence du vecteur *Phlebotomus*

longicuspis (El MIRI, 2009). Tous ces éléments favorisent la présence de la leishmaniose viscérale en zone urbaine, c'est le cas au Brésil, en Afghanistan et au Népal où la maladie est de plus en plus signalée dans les grandes métropoles (DESJEUX, 2001).

2-2-Répartition des cas de leishmaniose viscérale à la province de Fès par communes

La figure 23 montre que la majorité des cas de leishmaniose viscérale ont été déclarés à la commune Mériniène (18cas), suivie de celles de Jnan Ward (16cas), d'Oulad Tayeb (12cas) et de Fès medina (10 cas).

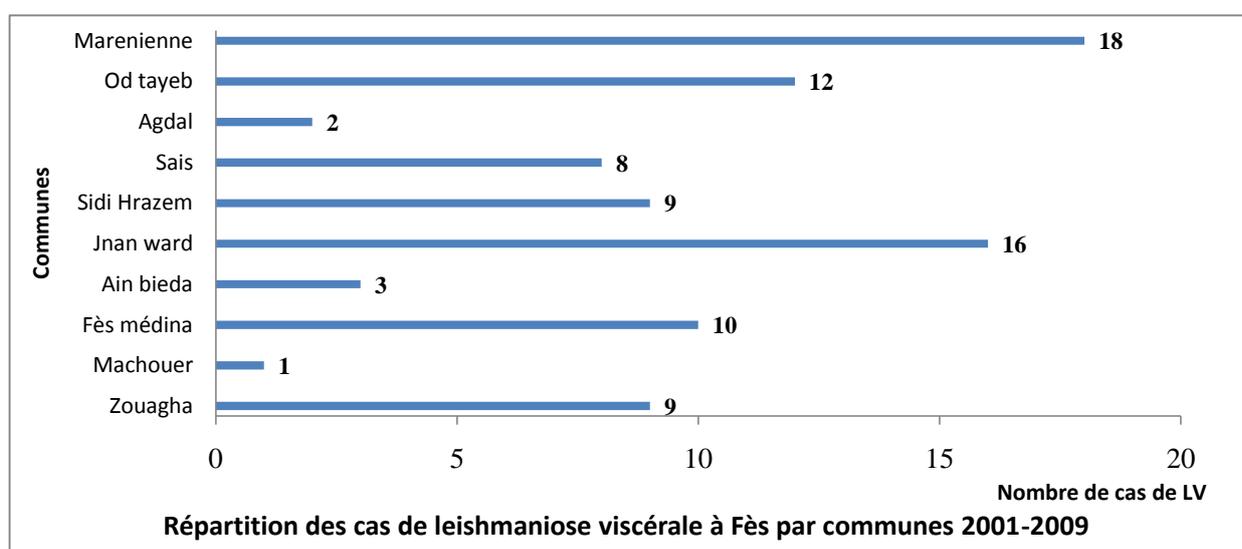


Figure 23: Répartition des cas de leishmaniose viscérale à Fès par communes entre 2001-2009.

Cette répartition donne également des informations du nombre de cas de LV pour les communes touchées.

2-3-Répartition des cas de LV à la province de Fès par centre de santé

Le graphique 24 montre que les cas de leishmaniose viscérale déclarés à la province de Fès provenaient de tous les centres de santé en particulier la CS de Oulad Tayeb avec 12 cas, suivi des CS de Sahrij Gnoua avec 9 cas, Ain nokbi avec 7 cas et Hajjoui avec 6 cas...

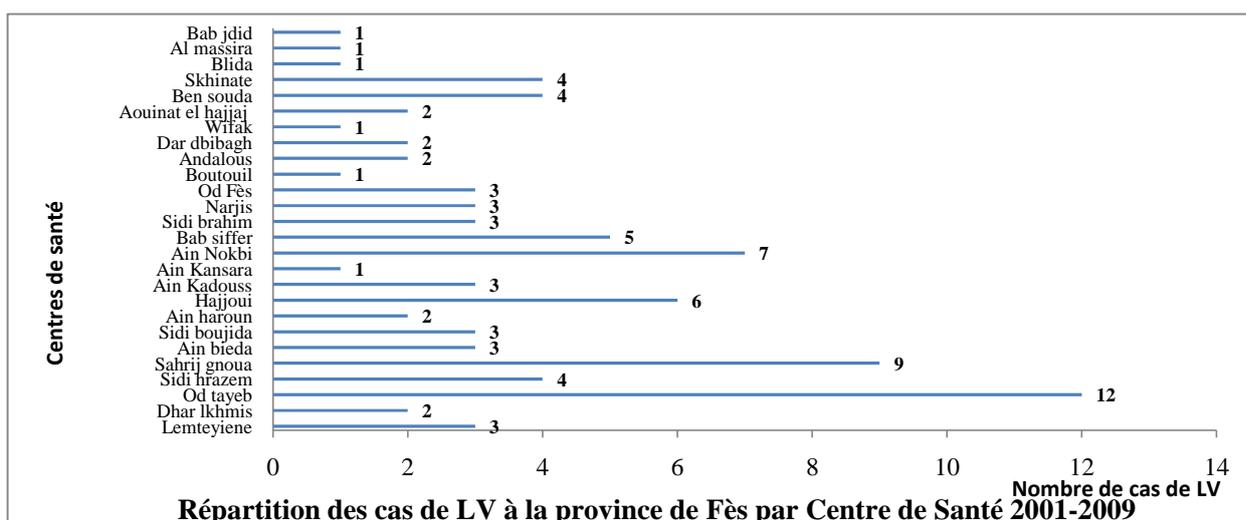


Figure 24: Répartition des cas de leishmaniose viscérale à Fès par centre de santé entre 2001-2009.

Comme le montre le tableau 8, les secteurs les plus touchés sont Ain bieda, suivi de Sidi hrazem, de Skhinate, de Lemteyiene, d'Od tayeb, de Hajjoui, de Sahrij gnoua, d'Oued Fès et de Bab siffer.

Tableau 8: Secteurs touchés de la province de Fès entre 2001 et 2009.

Secteurs	Population	Nombre de cas	Risque %
Bab jdid	21188	1	0,0047%
Al massira	30581	1	0,0032%
Blida	11601	1	0,0086%
Skhinate	6215	4	0,0643%
Bensouda	52041	4	0,0076%
Aouinat hajjaj	66250	2	0,0030%
Wifak	53665	1	0,0018%
Dar dbibegh	34126	2	0,0058%
Andalous	21875	2	0,0094%
Boutouil	10493	1	0,0095%
Oud Fès	26407	3	0,0113%
Narjis	130684	3	0,0022%
Sidi brahim	85877	3	0,0034%
Bab siffer	46043	5	0,0108%
Ain nokbi	93886	7	0,0074%
Ain kansara	11943	1	0,0083%
Ain kadous	38139	3	0,0078%
Hajjoui	43199	6	0,0138%

Ain haroun	32792	2	0,0060%
Sidi boujida	37664	3	0,0079%
Ain bieda	2635	3	0,1138%
Sahrij gnoua	77420	9	0,0116%
Sidi hrazem	4737	4	0,0844%
Od tayeb	77420	12	0,0154%
Dhar lakhmis	35604	2	0,0056%
Lemteyiene	16039	3	0,0187%

La plupart de ces secteurs font partie de la ceinture entourant le centre ville de Fès où il y a quelques bidonvilles, où les déchets s'entassent et l'hygiène n'est pas prise en compte. Ces éléments font de ces secteurs des lieux favorables pour la croissance des phlébotomes et la prolifération des chiens errants.

Ces données seront utiles pour le choix des secteurs à risque pour y effectuer des prélèvements sur tout chien suspect ou non de leishmaniose canine.

2-4-Répartition des cas de LV à la province de MY par communes

La figure 25 montre que la majorité (soit 28 cas) des cas positifs à la leishmaniose viscérale ont été déclarés à Ain Bouali, suivi de 14 cas déclarés à chacune des communes suivantes: Sebaa roidi, Laajajra et Wadaine, puis 9 cas à Ain Chkfet et à Ain kansara.

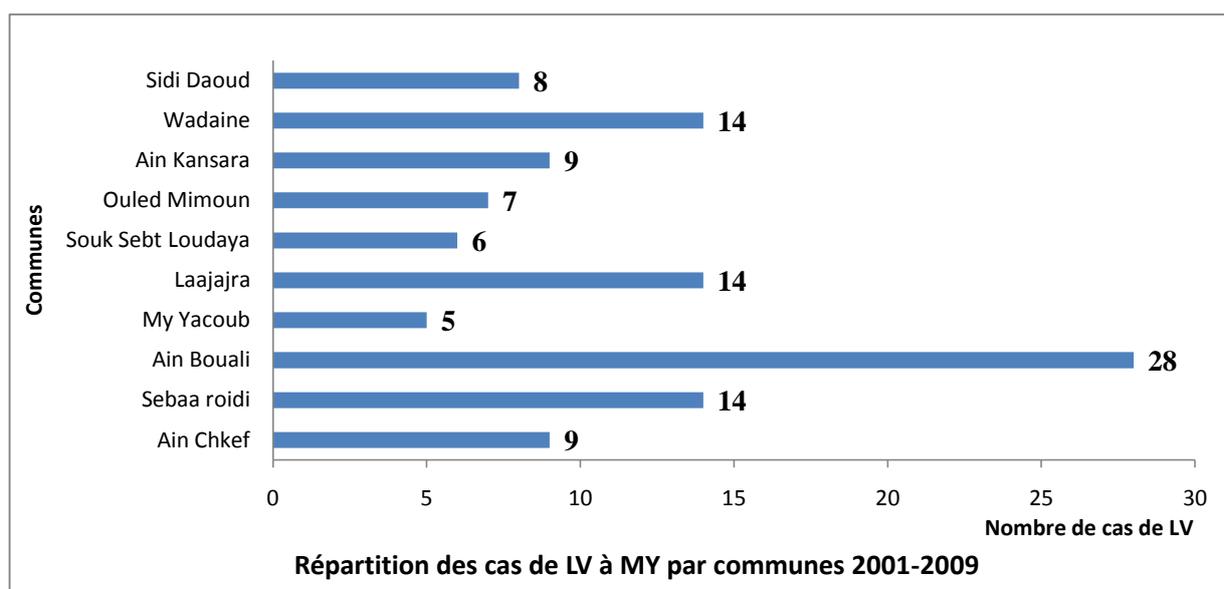


Figure 25: Répartition des cas de leishmaniose viscérale à MY par communes entre 2001-2009.

Le tableau 9 montre que la plupart des secteurs de la province de My Yacoub sont touchés par la leishmaniose viscérale, mais ce sont Ain Bouali (28 cas), Wadaine (14 cas) et My Yacoub (5 cas) qui ont enregistré les nombres de cas les plus élevés.

Tableau 9: Secteurs touchés de la province de My Yacoub entre 2001-2009.

Secteurs	Population	Nombre de cas	Risque
Sidi Daoud	12070	8	0,0662%
Wadaine	10917	14	0,1282%
Ain Kansara	11943	9	0,0753%
Ouled Mimoun	10990	7	0,0636%
Souk Sebt Loudaya	11959	6	0,0501%
Laajajra	14050	14	0,0996%
My Yacoub	4946	5	0,1010%
Ain Bouali	14921	28	0,1876%
Sebaa Roidi	15412	14	0,0908%
Ain Chkef	37278	9	0,0241%

3-Répartition des cas de leishmaniose viscérale selon le sexe à Fès et MY

La figure 26 présente une répartition des cas de leishmaniose viscérale déclarés, durant les neuf dernières années, à la province de Fès et celle de My Yakoub selon le sexe. Cette meme figure montre qu'à My Yacoub la leishmaniose masculine représente 44% des cas, suivie de celle féminine 32%, alors que les cas de sexe indéterminé ne représentent que 24%.

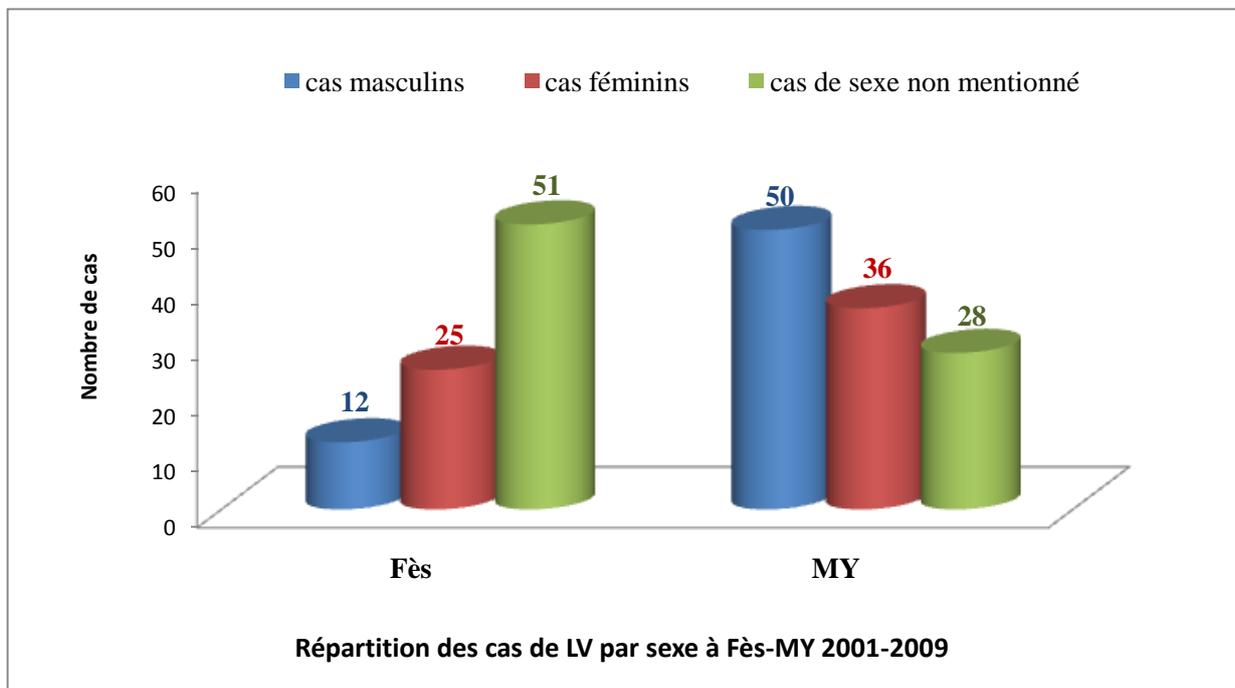


Figure 26: Comparaison des cas de LV déclarés à Fès et à My Yacoub selon le sexe entre 2001-2009.

Sur une totalité de 88 cas positifs à la leishmaniose viscérale à la province de Fès, 27% (soit 25 cas) étaient de sexe féminin et 13% (soit 12 cas) des cas étaient masculins. Pour 60% (soit 51 cas) le sexe n'était pas précisé. Ceci pourrait être expliqué par un problème de notification au niveau du SIAAP de Fès en particulier de 2001 jusqu'à 2005 et c'est à partir de 2006 que l'enregistrement du sexe et de l'âge ont été pris en considération dans la notification des cas (figure 27).

Cette figure nous a permis d'évaluer la prédominance de la maladie par rapport au sexe. Ainsi, la leishmaniose féminine prédomine à Fès avec une valeur de 67,57% et celle masculine (soit 58%) à la province de My Yacoub.

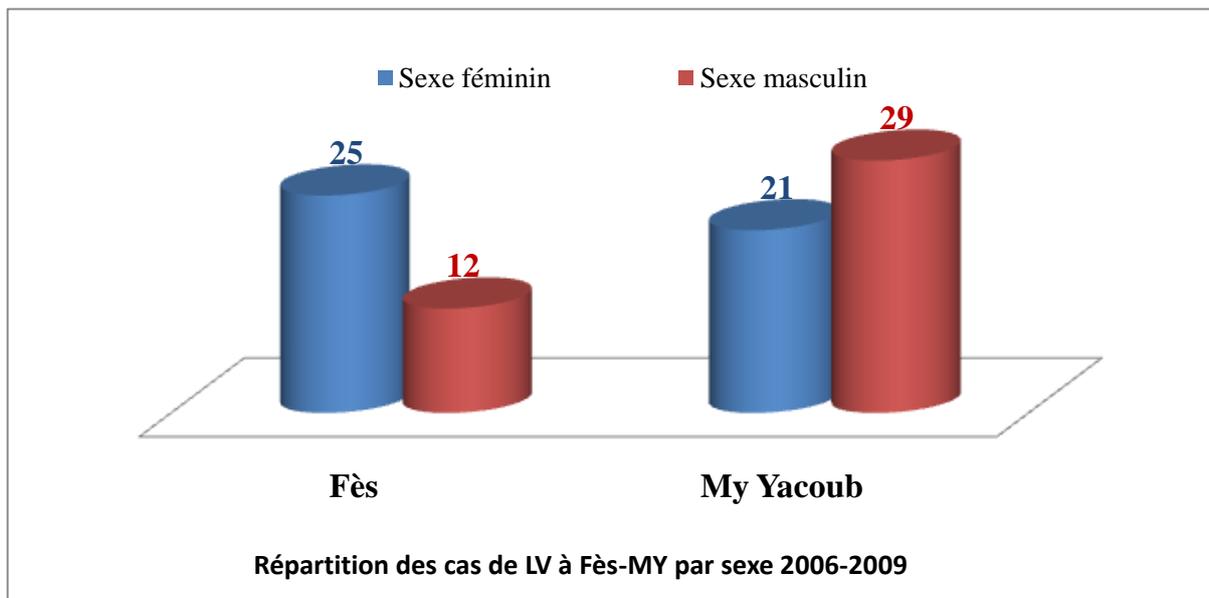


Figure 27: Comparaison selon le sexe des cas de LV déclarés à Fès et à MY entre 2006-2009.

Le résultat trouvé à Fès est semblable à ceux des autres études traitant dans ce cas, la leishmaniose cutanée à savoir celle de CHIHEB et *al.* en 1999 au nord du Maroc qui a rapporté 56% de leishmaniose féminine et celle d'El MIRI en 2009 qui a rapporté un taux de 63,8%.

4-Répartition des cas de LV selon la tranche d'âge à Fès et My Yacoub entre 2006-2009

La figure 28 montre qu'à la province de Fès, les sujets de 1 à 4ans sont les plus touchés avec un taux de 45,95% suivis par la tranche d'âge de 5 à 9ans qui représente 27,02% des cas.

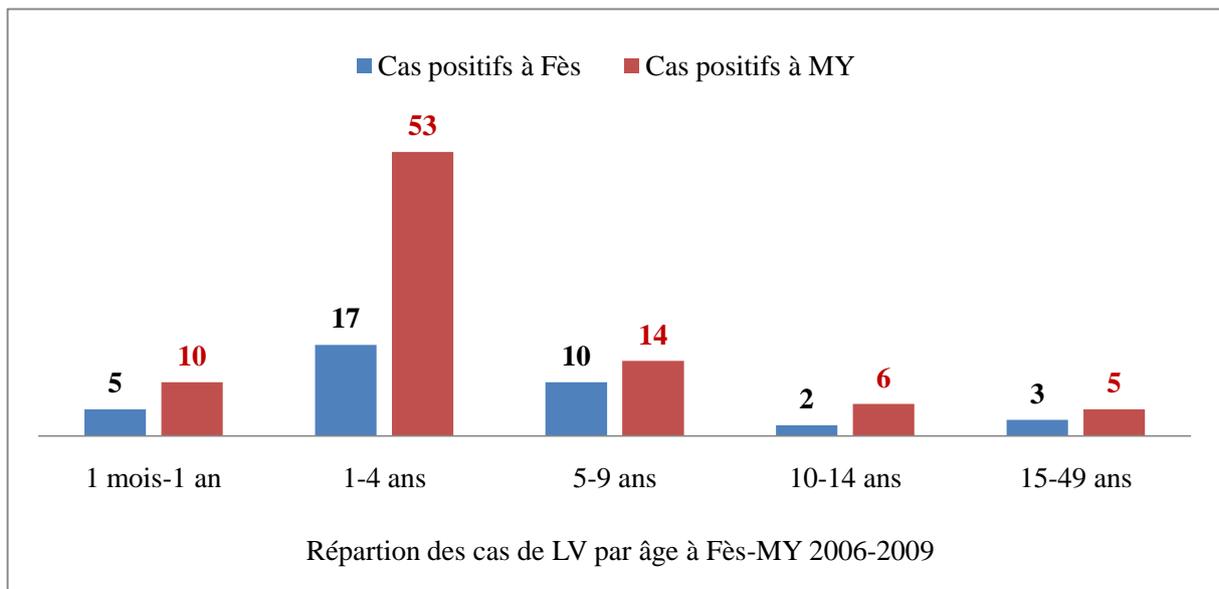


Figure 28: Comparaison des cas de LV déclarés à Fès et à de My Yacoub selon l'âge entre 2006-2009.

Les résultats de la province de Moulay Yacoub concordent parfaitement avec ceux trouvés à Fès. La majorité des cas 60,22% était d'âge compris entre 1 et 4ans, suivie de 15,91% des cas appartenant à la tranche d'âge 5-9ans.

Ce résultat pourrait être expliqué par le fait que la leishmaniose viscérale touche préférentiellement les enfants compte tenu de leur faible réaction immunitaire. La présence de quelques cas de leishmaniose viscérale chez des adultes peut être expliquée par des déficiences immunitaires chez ces derniers (AOUN et *al.*, 2004).

II-Résultats et discussions de l'étude prospective

Un total de 50 sérums a été collecté. Le test rapide a permis d'identifier 6 positifs, soit 12%. Tous les sérums positifs ont été confirmés par un second test rapide « Leishmania Ab Rapid Test 2.0 ». Les sérums positifs contenaient tous des IgG anti-leishmanies sans aucune trace d'IgM témoignant d'une infection ancienne.

1-Répartition des chiens étudiés selon les groups

Comme le montre la figure 29, les 6 cas de la leishmaniose canine appartiennent au groupe 1 « chiens à propriétaires », dont les prélèvements ont été réalisés à l'Américain Fondouk.

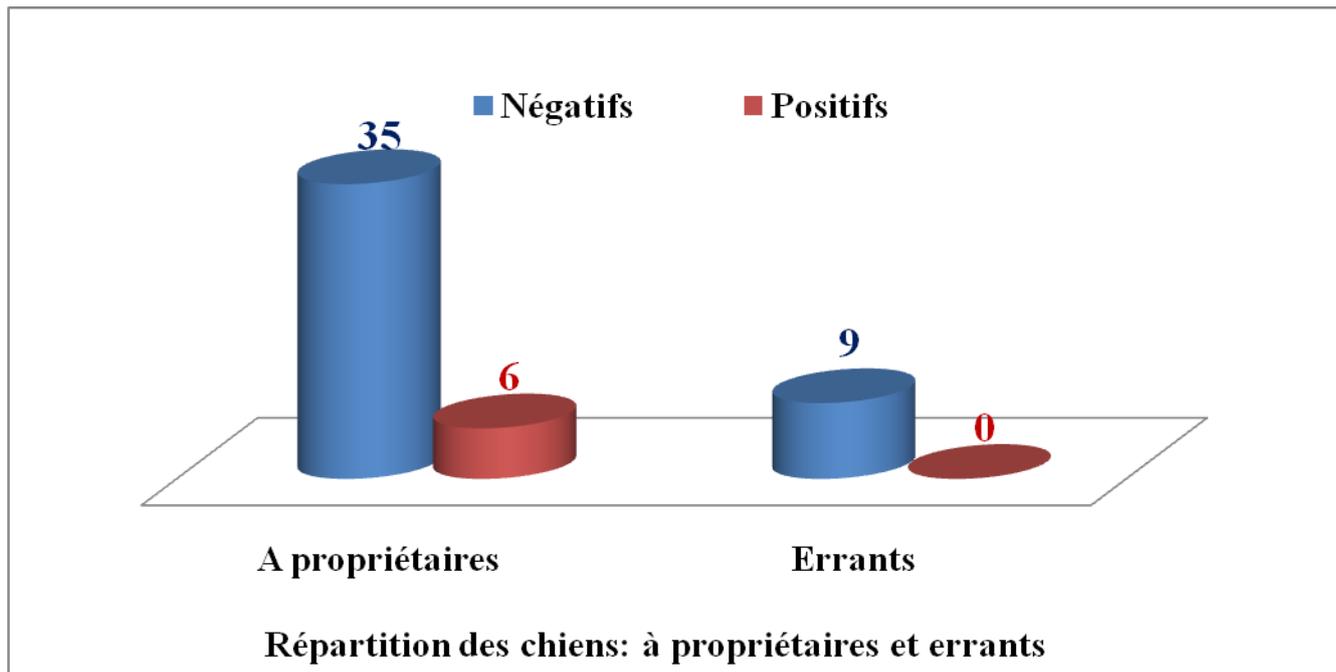


Figure 29: Répartition des chiens étudiés selon qu'ils soient à propriétaires ou errants.

Le résultat du test rapide de la leishmaniose canine pour les chiens errants s'est révélé négatif. Nous ne pouvons pas considérer ce résultat comme étant représentatif de la population de ces derniers étant donné que l'effectif est très faible.

2-Répartition des chiens étudiés selon la symptomatologie

L'analyse du graphique 30 montre que la majorité des cas positifs à la leishmaniose canine, soit 66,66% étaient asymptomatiques. Les chiens restants souffraient des symptômes suivants:

- Dépilation.
- Amaigrissement et abattement.
- Dermatite.
- Nodules multiples.
- Difficulté à marcher.

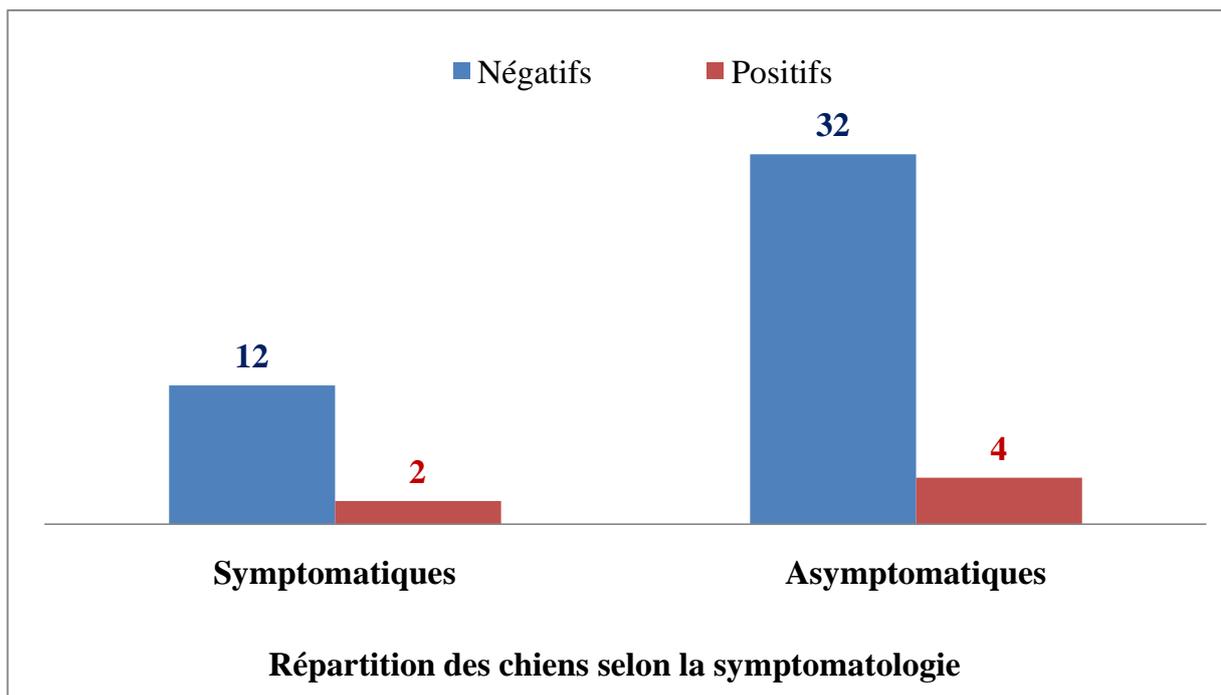


Figure 30: Répartition des chiens étudiés selon la symptomatologie.

Ces résultats sont distincts de ceux trouvés par HARRAT et *al.* en 2002 à Algérois qui ont rapportés que parmi 666 cas positifs à la leishmaniose canine, 70% étaient symptomatiques dont les signes cliniques communs étaient l'amaigrissement et les lésions cutanées, 25% étaient des porteurs sains alors que 5% avaient un diagnostic non précis. L'étude réalisée par AOUN et *al.* en 2005 en Tunisie a rapporté que 80% des cas positifs avaient une altération générale. Quant à l'étude réalisée à Nador par RAMI et *al.* en 2003, ils rapportent que 38,9% des chiens positifs étaient asymptomatiques.

Les 12 cas symptomatiques qui se sont révélés négatifs à la leishmaniose canine, parmi lesquels nous citons les chiens errants dont le diagnostic clinique révélait de fortes probabilités de leishmaniose, peuvent être atteints d'autres affections liés au mode de vie sévère de ces animaux (manque de nourriture, maladies fréquentes...).

3-Répartition des chiens étudiés selon le sexe

La population étudiée comprenait plus de femelles que de mâles avec un sex-ratio de 1,17. Le graphique 31 montre que la majorité des cas positifs à la leishmaniose canine, soit 83,33% étaient de sexe féminin. Alors que les mâles positifs ne représentaient que 16,67%.

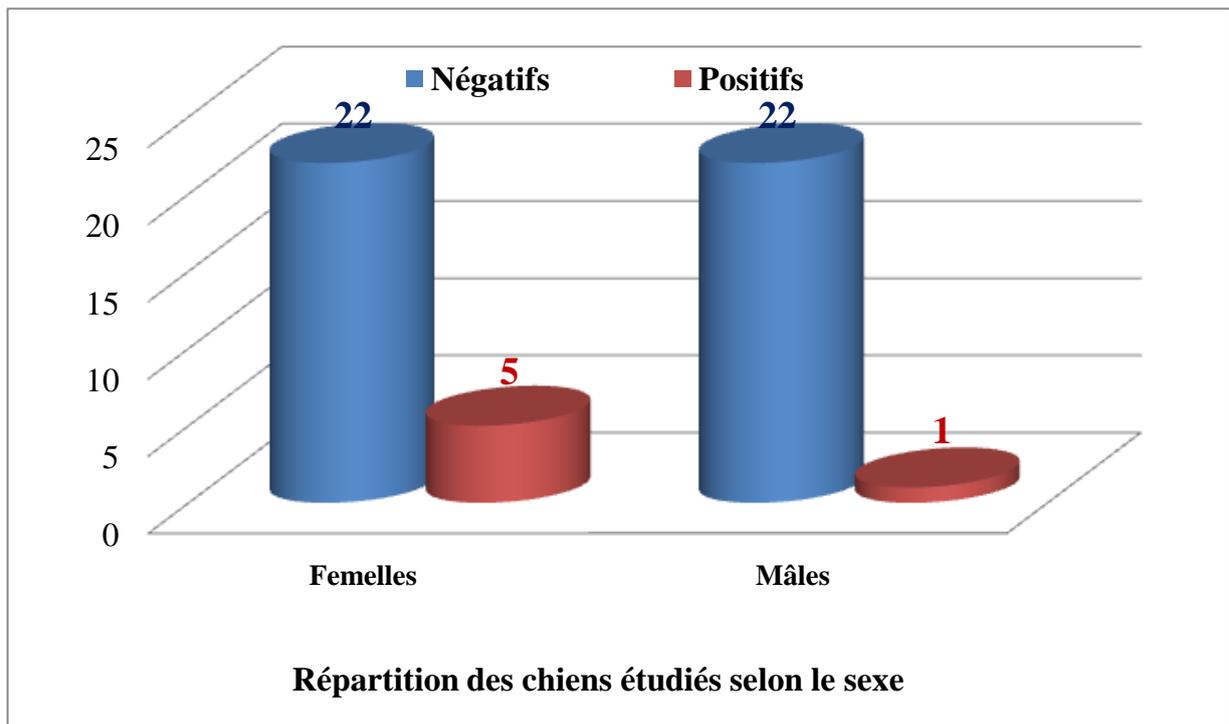


Figure 31: Répartition des chiens étudiés selon le sexe.

Les autres études réalisées au cours des dernières années, dont nous citons celle de RAMI et *al.* en 2003 à Nador (257 chiens positifs à la LCan), et celle de AOUN et *al.* en 2005 en Tunisie témoignent que l'infection ne dépend pas du sexe étant donné que le nombre de cas positifs femelles était presque égale à celui des mâles.

L'étude réalisée par CROTTI et *al.* en Italie en 2007, vient bousculer cette théorie. Elle rapporte une prédilection sexuelle chez les mâles qui s'avèrent être plus sensibles à *Leishmania infantum*. En comparaison avec cette étude, nous avons trouvé des résultats contradictoires qui pourraient être expliqués par le manque d'effectif.

4-Répartition des chiens étudiés selon la race

Le graphique 32 montre une distribution des chiens étudiés selon la race et leur atteinte par la leishmaniose canine.

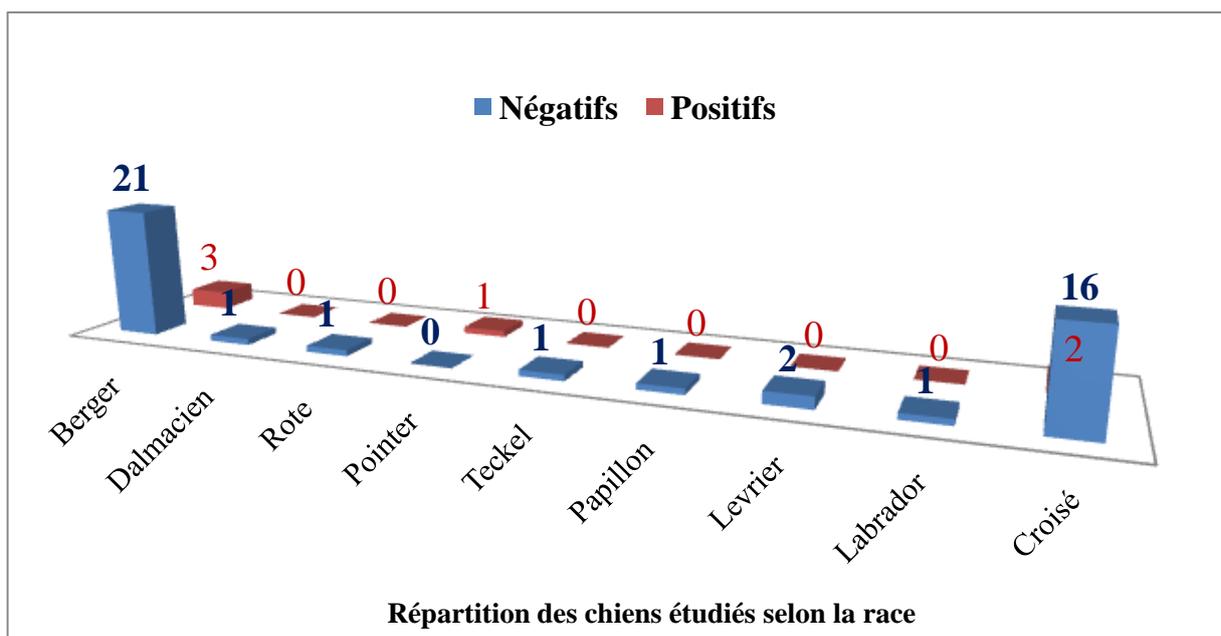


Figure 32: Répartition des chiens étudiés selon la race.

La majorité des cas diagnostiqués étaient des Berger parmi lesquels 3 Bergers Allman (soit 60% des sérums positifs) étaient séropositifs à la leishmaniose canine et deux d'entre eux étaient symptomatiques. Ces résultats concordent avec ceux trouvés à Algérois par HARRAT et *al.* en 2002 qui ont rapporté que 80% des séropositifs étaient des Bergers Allman, ainsi qu'avec les résultats trouvés en Italie par CROTTI et *al.* en 2007 qui ont trouvé une prévalence de la leishmaniose canine chez les Bergers Allman.

Au Maroc, la race Bergers Allman est souvent utilisée pour la surveillance des maisons et des parking. La prévalence élevée de la leishmaniose de cette race canine semble liée à son activité en dehors des foyers qui l'expose pendant la nuit aux piqûres de phlébotomes.

Les autres races (Dalmacien, Rote, Pointer, Teckel, Papillon, Levrier et Labrador) ont été rarement rencontrées lors de notre étude et ne présentent quasi aucun cas de leishmaniose canine appart chez les Pointer où le seul cas diagnostiqué s'est avéré positif.

Quant aux chiens croisés, nous avons réalisé 18 prélèvements parmi lesquels 2 sérums se sont avérés positifs à la leishmaniose canine.

5-Répartition des chiens étudiés selon l'âge

La figure 33 montre une répartition des chiens étudiés selon l'âge et selon l'atteinte par la leishmaniose canine.

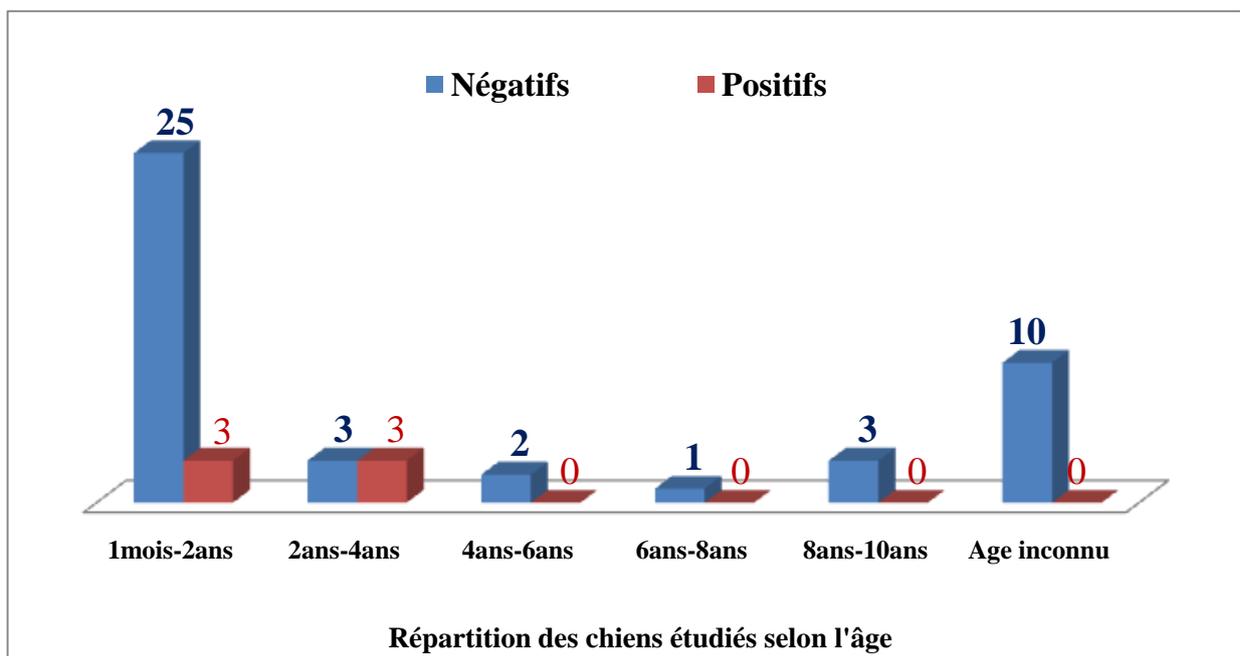


Figure 33: Répartition des chiens étudiés selon les tranches d'âge.

Nous remarquons que 54% des chiens étudiés étaient d'âge compris entre quelques mois et 2 ans, parmi lesquels nous avons trouvé 3 cas de leishmaniose canine. Trois autres cas positifs étaient d'âge compris entre 2 et 4 ans. Nous en déduisons que ce sont les jeunes chiens, d'âge inférieur à 5 ans, qui sont les plus sensibles à la maladie à cause de leurs faibles réactions immunitaires. Ces résultats sont discordants par rapport à ceux de NAJJAR et *al.* en 2000 qui ont rapportés plus de cas positifs de leishmaniose canine chez des chiens adultes à la province de Séfrou et Zouagha My Yacoub.

L'étude réalisée par CROTTI en 2007 a montré une distribution bimodale des cas séropositifs à la leishmaniose canine selon l'âge. Le premier pic est représenté par les chiens de moins de 3 ans, quant au second ce sont les chiens de 8 à 10 ans qui sont les plus atteints. Selon une

autre étude réalisée en Tunisie sur la leishmaniose canine en 2004 par AOUN et *al.*, les chiens séropositifs sont plus jeunes (soit <5ans) dans la population citadine et représentent 81%. Alors que parmi la population rurale autochtone 57% des chiens avaient plus de 5ans. Ceci concorde avec nos résultats malgré le manque d'effectif dans notre étude.

Quant aux chiens errants dont la plupart sont suspects de rage, nous n'avons pas pu examiner leur dentition et de ce fait leurs âges restent indéterminés.

RÉFÉRENCES

- 1- AOUN K., KAAROUD H., HAMZAOUI S., SIALA E., KOOLI C., TURKI S., MRAD S., BOURATBINE A. & BEN MAÏZ H. (2004) Particularités de la leishmaniose viscérale de l'adulte non infecté par le VIH en tunisie. *Med Trop*; 64 : 160-162.
- 2- BANETH G. & SHAW SE. (2002) Chemotherapy of canine leishmaniosis. *Vet. Parasitol.*, 106, 315-324.
- 3- BARRAL A., ANDRADE BB., BRODSKYN CL. & BARRAL-NETTO M. (2007) Role of sand fly saliva in human and experimental leishmaniasis: current insights. *Scand. J. Immunol.*, 66, 122-127.
- 4- BELHAJ S., PRATLONG F., MAHJOUB H., TOUMI N.H., AZAIEZ R., DEDET J.P. & CHAKER E. (1999) Leishmaniose viscérale à *Leishmania infantum* MON-24: Réalité en Tunisie. *Parasitologie*, 2114.
- 5- BENELBARHDADI I., AJANA FZ., BENAZOUZ M., AFIFI R., IBRAHIMI A., BELKHAYAT S., ESSAID A., SEBTI MF. (1994) La leishmaniose viscerale chez l'adulte : a propos de 6 cas.
- 6- BORJA-CABRERA PG, SANTOS FN, SOUZA LOP, PALATNIK-DE-SOUSA CB, MENZI. (2007) Safety trial using the Leishmune vaccine against canine visceral leishmaniasis in Brazil. *Vaccine*, 25, 2180-2186.
- 7- BOURATBINE A., AOUN K., GHARBI M., HAOUAS N., ZAROUI J., HARRAT Z., BABA H. & DARGHOOUTH M.A. (2004) Données épidémiologique, cliniques et parasitologiques de la leishmaniose canine en Tunisie. Manuscrit n° 2707.
- 8- BOURDOISEAU G. (2000) Parasitologie clinique du chien. *Créteil : NÉVA*, 456p.
- 9- BANETH G. & SHAW SE. (2002) Chemotherapy of canine leishmaniosis. *Vet. Parasitol.*, 106, 315-324.
- 10- BOURDOISEAU G., DÉNEROLLE P. (2000) Traitement de la leishmaniose canine: actualités. *Revue Méd. Vét.*, 151, 395-400.
- 11- BOURDOISEAU G., HUGNET C., PAPIEROK G. & LEMESRE J. (2004) Canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum*: immunotherapy trials.
- 12- BOURDOISEAU G, DÉNEROLLE P, CHABANNE L. (2008) La leishmaniose du chien en questions. *Le Point Vét.*, 39, 51-53.
- 13- BUSSIÉRAS J, CHERMETTE R. (1991) *Parasitologie vétérinaire*.
- 14- BUSSIÉRAS J, CHERMETTE R. (1992) *Parasitologie vétérinaire*.
- 15- CARRILLO E. & MORENO J. (2009) Cytokine profiles in canine visceral leishmaniasis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 128, 67-70.
- 16- CROTTI A.M. & CASTAGNARO M. (2007) Leishmaniose canine: directives pour le diagnostic, traitement, control et prevention, Italie. Part 1.
- 17- DANTAS-TORRES F. (2006) Leishmune[®] vaccine : the newest tool for prevention and control of canine visceral leishmaniasis and its potential as a transmission-blocking vaccine. *Vet. Parasitol.*, 141, 1-8.

- 18- DAVIDSON RN, DEN BOER M, RITMEIJER K. (2008) Paromomycin. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* doi:10.1016/j.trstmh.2008.09.008.
- 19- DEREURE J, LANOTTE G, PRATLONG F, GOUVERNET J, MAJHOUR J, BELAZZOUG J, KHIAMI A, RAGEH HA, JARRY D, PÉRIÈRES J ET RIOUX JA. (1998) Leishmaniose canine à *Leishmania infantum* intérêt et réalisation du test au latex, N°1935.
- 20- DEREURE J, BARRERA C, GUERRINI F, MARTINI A, ECHEVERRIA R, GUDERIANZ RH ET LEPONT F. (1994) Leishmaniose en equateur. Infestation naturelle du chien par *Leishmania panamensis*. *Belge Med. trop.* 74, 29-33.
- 21- DESJEUX P. (2001) The increase in risk factor for leishmaniasis worldwide. *Trans R, Soc Trop Med Hyg*, 95, 239-243.
- 22- Direction d'Epidémiologie et de la Lutte Contre les Maladies (2006). *Bulletin épidémiologique*, parution Octobre 2008, 65-66-67 et 68.
- 23- ENRIQUEZ B., TISSIER R. & PERROT S. (2006) *Pharmacologie et toxicologie des médicaments anti-parasitaires externes en médecine vétérinaire*. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Pharmacie et Toxicologie. 43p.
- 24- EL MIRI H. (2009) Identification morphologique et moléculaire des vecteurs des leishmaniens à la ville de Fès. Mémoire du Master à FST de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc.
- 25- EUZEBY J. (2008) *Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire*. Paris : Lavoisier, 818p.
- 26- FERRER LM. (1999) Clinical aspects of canine leishmaniasis. In : *Canine leishmaniasis : an update*. Barcelona, Spain. Wiesbaden : *Hoechst Roussel Vet*, 6-9.
- 27- FOURNET A. (2008) Alerte à la leishmaniose. *Le Nouvel Observateur*, n°2260, 88-89.
- 28- GIUNCHETTI RC., BARBOSA REIS A., DA SILVEIRA-LEMOES D, MARTINS-FILHO OA, CORREA-OLIVEIRA R. & BETHONY J. (2008) Antigenicity of a whole parasite vaccine as promising candidate against canine leishmaniasis. *Res. Vet. Sci.*, 81(1), 106-112.
- 29- HARRAT Z. & BELKAID M. (2002) Les leishmanioses dans Algérois, données épidémiologiques. 6ème congrès international francophone de médecine tropicale "Santé et urbanisation en Afrique". Manuscrit n°DK/42.
- 30- HUBERT B. (2006) Comment diagnostiquer la leishmaniose canine. *Le Point Vét.*, 270, 54-59.
- 31- JAFFE CL. (1999) Perspectives for a vaccine against canine leishmaniasis. In : *Canine leishmaniasis : an update*. Barcelona, Spain, 1999. Wiesbaden : *Hoechst Roussel Vet*, 66-71.
- 32- JHINGRAN A., CHAWLA B., SAXENA S, BARRETT MP, MADHUBALA R. (2009) Paromomycin : uptake and resistance in *Leishmania donovani*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 164, 111-117.
- 33- JUNQUEIRA M., COELHO P. (2008) Meglumine antimonate directly increases phagocytosis, superoxide anion and TNF- α production, but only via TNF- α it indirectly increases nitric oxide production by phagocytes of healthy individuals, in vitro. *Int. Immunopharmacol.*, 8, 1633-1638.

- 34- KHAMESIPOUR A., RAFATI S., DAVOUDI N., MABOUDI F., MODABBER F. (2006) Leishmaniasis vaccine candidates for development : a global overview. *Indian J. Med. Res.*, 123, 423-438.
- 35- KOUTINAS AF., SARIDOMICHELAKIS MN., MYLONAKIS ME., LEONTIDES L., POLIZOPOULOU Z., BILLINIS C. *et al.* (2001) A randomized, blinded, placebo-controlled clinical trial with allopurinol in canine leishmaniasis. *Vet. Parasitol.*, 98, 247-261.
- 36- LAMOTHE J. (1997) Essai de traitement de la leishmaniose canine par l'amphotéricine B : 39 cas. *Prat. Méd. Chir. Anim. Cie*, 32, 133-141.
- 37- LAMOTHE J. (1999) Treatment of canine leishmaniasis from A (Amphotericin B) to Z (Zyloric[®]). *In* : Canine leishmaniasis : an update. Barcelona, Spain, 1999. Wiesbaden : *Hoechst Roussel Vet*, 12-17.
- 38- LAMOTHE J. (2001) Activity of amphotericin B in lipid emulsion in the initial treatment of canine leishmaniasis. *J. Small Anim. Pract.*, 42, 170-175.
- 39- Manuel terrestre de l'OIE (2005). Chap 2.2.11. — Leishmaniose. Boek Université, Bruxelles, Belgique.
- 40- MARTY P, DELAUNAY P, FISSORE C, LEFICHOUX Y. (2007) La leishmaniose méditerranéenne due à *leishmania infantum* : intérêts des tests de diagnostic rapide: it-leish[®] et id-pagia leishmaniasis[®]. *Med Trop* ; 67 : 79-85.
- 41- MEUNIER A. (2007) Etude épidémiologique de la leishmaniose canine et de l'influence des facteurs environnementaux (en France depuis 1965, dans le sud-ouest en 2006). *Thèse Méd. Vét*, Lyon, 106p.
- 42- Ministère de la Santé Royaume du Maroc, Rapport de la gestion intégrée de la lutte contre les vecteurs. Sept 2006.
- 43- MIRO G., CARDOSO L., PENNISI MG., OLIVA G., BANETH G. (2008) Canine leishmaniasis – new concepts and insights on an expanding zoonosis : part two. *Trends Parasitol.*, 24, 371-377.
- 44- MORENO J., ALVAR J. (2002) Canine leishmaniasis : epidemiological risk and the experimental model. *Trends in Parasitology*, 18, 399-404.
- 45- MOSSOLAYI MD., APPRIOU M. (1999) Intérêt du monoxyde d'azote dans la défense anti-parasitaire des macrophages humains. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 138, 7-17.
- 46- NEJJAR R., LEMRANI M., BOUCEDDA L., AMAROUCHE H. & BENSLIMANE A. (2000) Variation in antibody titres against *Leishmania infantum* in naturally infected dogs in northern Morocco. *Revue Méd. Vét.* 151, 8-9, 841-846.
- 47- Organisation Mondiale de la Santé. Lutte contre les leishmanioses, (2006), n° 793.
- 48- PALATNIK-DE-SOUSA CB. (2008) Vaccines for leishmaniasis in the fore coming 25 years. *Vaccine*, 26, 1709-1724.
- 49- PAPIEROK GM. (2002) Diagnostic biologique de la leishmaniose canine et perspectives. *Nouv. Prat. Vét.*, 159, 65-68.
- 50- PINELLI E., KILLICK KENDRIK R., WAGENAAR R., BERNARDINA W., DEL REAL G. & RUISTEMBERG EJ. (1994) Cellular and humoral immune responses in

- dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. *Infect Immun*, 62,229-335.
- 51- PINELLI E., RUTTEN VPMG., RUITENBERG EJ. (1999) Cellular immune responses in canine leishmaniasis. *In : Canine leishmaniasis : an update*. Barcelona, Spain, 1999. Wiesbaden : Hoechst Roussel Vet, 60-64.
- 52- RAFATI S., NAKHAEE A., TAHERI T., TASLIMI Y., DARABI H., ERAVANI D. & al. (2005) Protective vaccination against canine visceral leishmaniasis using a combination of DNA and protein immunization with cysteine proteinases type I and type II of *Leishmania infantum*. *Vaccine*, 23, 3716-3725.
- 53- RAMIRO MJ., ZARATE JJ., HANKE T., RODRIGUEZ D., RODRIGUEZ JR., ESTEBAN M. *et al.* (2003) Protection in dogs against visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* is achieved by immunization with a heterologous prime-boost regime using DNA and vaccinia recombinant vectors expressing LACK. *Vaccine*, 21, 2474-2484.
- 54- RAMI M, ATARHOUCHE T, SABRI M, CADI SOUSSI M, BENZAOU T, DAKKAK A. (2003) Leishmaniose canine dans le Rif: enquête séro-épidémiologique. vol.10, 79-85.
- 55- RHAJAOUI M. (2009) Les leishmanioses humaines au Maroc : une diversité nosogéographique. *Pathologie Biologie*.
- 56- SAFI S., TAZI Z., ADNIAOUI M., ET COL. La leishmaniose viscérale de l'adulte. *Médecine du Maghreb* 1996 n°59 ; p :17 – 23.
- 57- SILVA OA., SILVA PB., SILVA OV., BRAGA GM., ALBUQUERQUE JÚNIOR A., QUEIROS NETO V., ROCHA ME. & SILVA EF. (2006) La leishmaniose viscérale canine dans le Nord-Est du Brésil : aspects épidémiologiques. n° 2924.
- 58- SLAPPENDEL RJ., FERRER L. (1998) Leishmaniasis. *In : GREENE CE*, editor. *Infectious diseases of the dog and the cat*. 2 ed. Philadelphia : WB Saunders, 450-456.
- 59- SOLANO-GALLEGO L., LLULL J., RAMOS G., RIERA C., ARBOIX M., ALBEROLA J. *et al.* (2000) The Ibizaian hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. *Vet. Parasitol.* 90, 37-45.
- 60- TITUS RG., BISHOP JV., MEJIA JS. (2006) The immunomodulatory factors of arthropod saliva and the potential for these factors to serve as vaccine targets to prevent pathogen transmission. *Parasite Immunol.*, 28, 131-141.
- 61- VERCAMMEN F., FERNANDEZ-PEREZ FV., C. DEL AMO, JM. ALUNDA. (2002) Follow-up of *Leishmania infantum* naturally infected dogs treated with allopurinol : immunofluorescence antibody test, ELISA and Western blot. *Acta Trop.*, 84, 175-181.
- 62- WERY M., JANSSENS PG. & GENTILINI M. (Oct 1995) Proto-zoologie médicale, Boek université, Bruxelles, Belgique.